

Nagymáté Zsuzsanna

A NITRIFIKÁCIÓ FOLYAMATÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA IVÓVÍZELOSZTÓ RENDSZEREKBEN

-doktori értekezés tézisei-

Témavezető:
Dr. Márialigeti Károly
egyetemi tanár

Doktori Iskola vezető:
Dr. Jánosi Imre
egyetemi tanár

Programvezető:
Dr. Ács Éva
tudományos tanácsadó



ELTE TTK BIOLÓGIAI INTÉZET MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK

BUDAPEST

2017

BEVEZETÉS

A víz az élőlények, és az emberi civilizáció fennmaradásához szükséges és elengedhetetlen természeti kincsek egyike. Magyarország fogyasztásra alkalmas édesvízkészlet tekintetében gazdag országnak számít. A vizek eredetüket, ásványi anyag összetételüket tekintve jelentősen eltérő felszíni és felszín alatti vízbázisokból származhatnak.

A magyarországi ivóvízellátás jelentős részét (>70%) adó felszín alatti vízbázisok, így a rétegvizek fizikai (hőmérséklet, szín, szag), kémiai tulajdonságaira (oldott oxigén, pH, szervesanyag tartalom, ion-összetétel), illetve biológiai (baktérium csíraszám, patogén mikroorganizmusok stb.) egyaránt befolyásoló hatással lehet többek között a víztartó kőzet összetétele. Egyes esetekben az ivóvízbázisokban egészségügyi kockázatot jelentő ionok, mint például ammónium-ion, bór és arzén, illetve különböző fakultatív patogén szervezetek is előfordulhatnak. A vízközművek feladata az ivóvizek fogyasztásra való alkalmasságának biztosítása, amely magába foglalja az egészségre káros anyagoktól való mentességét és biológiai stabilitást.

Az ivóvizek alapvetően tápanyag limitált, az alkalmazott ivóvízkezelések következtében, pedig különleges környezetek, melyek mikrobiális diverzitása mindezek ellenére a természetes környezetekével összemérhető (*Gomez-Alvarez és mtsai, 2012*). A jelentős diverzitást, tág anyagcsere-képességekkel rendelkező, a változó körülményekhez alkalmazkodni képes mikrobiális közösség alkotja (*Lautenschlager és mtsai, 2014*). Ez a széles metabolikus potenciál hozzájárulhat különböző mikroorganizmusok által közvetített folyamatok ivóvízelosztó rendszerekben történő lejátsszódásához.

A rétegvizek ammónium-ion tartalma a nitrifikáció folyamatának kiindulópontját jelentheti, melynek során a keletkező nitrit és nitrát számos közegészségügyi probléma forrása lehet, ugyanis nitroso-vegyületekké alakulva tumoros elfajulásokat okozhatnak (*Philips és mtsai, 2002*). A nitrit véráramba kerülve methemoglobin képződését váltja ki, amely gyermekeknél súlyos keringési és oxigén ellátási problémákat okoz. Így alapvető fontosságú az ivóvizek ammónium-ion koncentrációjának csökkentése, illetve lehetőség szerint teljes eltávolítása. Ez történhet fizikai és kémiai módszerekkel, valamint az ammónium-ion nitrátig történő kontrollált biotikus oxidációjának, a nitrifikáció folyamatának a serkentésével. A nitrifikáció két lépéses, aerob körülmények között lejátsszódo folyamat, amelyben

Gomez-Alvarez, V, Revetta, RP, Santo Domingo, JW (2012) Metagenomic analyses of drinking water receiving different disinfection treatments. *Appl and Env Microbiol*, 78(17), 6095-6102.

Lautenschlager, K, Hwang, C, Ling, F, Liu, W T, Boon, N, Köster, O, Egli, T, Hammes, F (2014) Abundance and composition of indigenous bacterial communities in a multi-step biofiltration-based drinking water treatment plant. *Water Res*, 62, 40-52.

Philips, S, Laanbroek, HJ, Verstraete, W (2002) Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 1(2), 115-141.

filogenetikailag különálló, kemolito-autotróf szervezetek vesznek részt. Az autotróf nitrifikáció első és sebesség meghatározó lépése az ammónia nitritté történő oxidációja, amelyben Bacteria és Archaea doménbe sorolható ammónia-oxidáló prokarióták játszanak szerepet. Az ammónia oxidációja során képződő nitritet, ezt követően a nitrit-oxidáló baktériumok oxidálják nitráttá. Tudásunk és nézeteink a kétlépéses nitrifikáció folyamatáról azonban jelentősen megváltoztak az úgynevezett „comammox” („*complete ammonia oxidizers*”) szervezetek felfedezésével, amelyek képesek egy sejten belül az ammónia nitráttá történő oxidálására. A nitrifikációban résztvevő mikroorganizmusok globálisan elterjedtek eltérő fizikai és kémiai paraméterekkel jellemezhető természetes és mesterséges környezetekben egyaránt (pl. talajokban, természetes vizekben, szennyvizekben és ivóvízelosztó rendszerekben).

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során négy, rétegvízbázisra épülő, eltérő ivóvízkezelési eljárásokat alkalmazó ivóvízhálózat tenyésztésen alapuló és tenyésztéstől független módszerekkel történő részletes mikrobiológia vizsgálatát tűztük ki célul.

- Célunk volt, az alkalmazott vízkezelési technológiák, ezen belül az alkalmazott fertőtlenítőszer (klór és klór-dioxid) hosszú és rövid távú hatásának vizsgálata az ivóvízelosztó rendszerek planktonikus mikrobiotájára.
- További célunk volt, az ivóvízhálózatokban előforduló mikrobiális közösségek térbeli változásának felderítése és az azokat befolyásoló fizikai és vízkémiai paraméterek hatásának vizsgálata.

A vizsgálatba vont ivóvízhálózatok rétegvízbázisa ammónium-iont tartalmazott, amely az ivóvízelosztó rendszerekben oxidálódott.

- Így kérdésként merült fel, hogy az ivóvízelosztó rendszerekben megjelenő oxidált szerves nitrogén-formák (nitrit és nitrát), az ammónium-ion biotikus oxidációjával, nitrifikáció útján keletkeztek-e.
- Célunk volt, a nitrifikáció folyamatával érintett hálózati pontokon a folyamatban résztvevő mikrobiális közösségek részletes jellemzése, illetve az alkalmazott vízkezelési technológiák és a környezeti paraméterek hatásának vizsgálata ezen közösségek összetételére.

A tenyésztéssel feltárt mikrobiális közösségszerkezeti arányok a tenyésztési körülmények okozta szelekció következtében jelentősen eltérhetnek a valós viszonyoktól.

- Kérdésként merült fel, hogy a nitrifikáló mikroorganizmusok sejtszámértékeinek becslésére alkalmazott legvalószínűbb élő sejtszám (MPN) technika, milyen mértékben képes feltárni a környezeti minták nitrifikáló mikroorganizmus közösségét.
- Továbbá, hogy a környezeti minták mikrobiális közössége képes-e hatást gyakorolni a nitrifikáló mikroorganizmusok sejtszámértékeire.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Négy Fejér megyei település ivóvízhálózatának (WN 1-4) két alkalommal történő részletes mikrobiológia vizsgálatát végeztük el. A fogyasztásra szánt ivóvizet felszín alatti vízbázisokból származó rétegvizek adták, amelyeket eltérő talpmélységű (88-215 m) kutak termeltek a vizsgálatba vont ivóvízhálózatokra. Az ivóvízkezelések során a nyersvizek fertőtlenítésére egy esetben klórt (WN-1 hálózat), két ivóvízelosztó rendszerben 2 és 0,05 ppm koncentrációban klór-dioxidot (WN-2 és WN-3 ivóvízhálózatok). A negyedik ivóvízhálózatban a fertőtlenítésére (WN-4) klórt és 1 ppm koncentrációban klór-dioxidot egyaránt alkalmaztak. A klórt, illetve a kombinált fertőtlenítési eljárást alkalmazó ivóvízelosztó rendszerekben (WN-1 és WN-4) további vízkezelésként a víztározó medencéket levegőztetették, utóbbi ivóvízhálózatnál vas- és mangántalanítást, illetve polifoszfáttal történő vízlágyítást is végeztek. Az egyes ivóvízhálózatok különböző pontjairól, a kezeletlen kútvízből, vízműtelepet elhagyó vízből, a víztoronyban tárolt vízből, illetve fogyasztói pontokról – (csapvíz), vettünk mintákat tenyésztéses, és tenyésztéstől független molekuláris mikrobiológiai, illetve vízkémiai vizsgálatokhoz.

A *vízkémiai elemzések* során a magyar szabványoknak megfelelően meghatároztuk az ammónium-, nitrit- és nitrát-ion koncentrációt és a kémiai oxigénigény értékét. A mért szervesetlen nitrogénformák (ammónium-, nitrit- és nitrát-ion) összegzése alapján meghatároztuk a különböző mintavételi pontok számított teljes szervesetlen nitrogén tartalmát. Helyszíni mérés során Multi 350i multiméter (WTW, Weilheim, Germany) terepi mérőkészülékkel a pH, a hőmérséklet és az oldott oxigén koncentráció értékeket is meghatároztuk.

Tenyésztéses eljárásokon alapuló módszerekkel vizsgáltuk meg a vízminták nitrifikáló és denitrifikáló (nitrát-redukáló) baktériumok MPN értékeit. A nitrifikáló baktériumok MPN értékeinek meghatározására alkalmazott táplevesekkel megegyező összetételű dúsító tenyészeteket állítottunk össze. A heterotróf baktériumok csíraszámértékeit, oligotróf (R2A) és jelentős szervesanyag tartalmú (élesztő kivonat agar) táptalajok alkalmazásával határoztuk meg.

Tenyésztéstől független mikrobiológiai módszerek segítségével tártuk fel az ivóvízhálózatok pontjainak és a nitrifikáló baktériumok dúsító tenyészeinek mikrobiális közösségösszetételét. A vízminták (2 l), illetve a nitrifikáló baktériumok dúsítására alkalmazott tenyészetek teljes térfogatát (90 ml) 0,2 µm pórus átmérőjű cellulóz nitrát membránszűrőn (*Millipore, Billerica, USA*), vákuumszűrő berendezéssel szűrtük le. A membránokon koncentrált genomiális DNS kivonását az UltraClean Soil DNA Isolation Kit (*MO-BIO Laboratories, Inc., USA*) alkalmazásával a gyártó utasítása szerint végeztük, melyet fizikai feltárással egészítettük ki.

Az ivóvízmintákban, illetve a nitrifikáló baktériumok dúsító tenészeiben jelenlevő Bacteria és Archaea közösségek szerkezetét a 16S rRNS gén szekvenciáján, a nitrifikációban résztvevő ammónia-oxidáló mikroorganizmusokét az ammónia oxidációjában szerepet játszó Bacteria és Archaea specifikus ammónia-monooxigenáz (*amoA*) gén szekvenciáján, míg a nitrit-oxidáló baktériumokét *Nitrospira* nemzetség specifikus 16S rRNS gén szekvencián alapuló molekuláris ujjlenyomat módszerrel (Terminális Restrikciós Fragmens Hossz Polimorfizmus – T-RFLP) tártuk fel. A denitrifikációban résztvevő szervezeteket a folyamatban szerepet játszó nitrit-reduktáz (*NirS* és *NirK*) gének alapján mutattuk ki.

A T-RFLP módszer során a Bacteria és Archaea 16S rRNS és *amoA* gének, valamint a *Nitrospira* nemzetségre specifikus 16S rRNS gén, PCR technikával felszaporított fluoreszcensen jelölt szakaszait, restrikciós endonukleáz enzimekkel emésztettük, majd etanolos kicsapással tisztítottuk. A mintákban jelenlevő fluoreszcensen jelölt terminális fragmenseket kapilláris gélelektroforézissel választottuk szét, és lézer fény segítségével detektáltuk. Az adatok kiértékelése során a zajsűrés, illetve az egyes futások egymáshoz illesztése, ezáltal az adatmátrix létrehozása a T-REX (*T-RFLP Analysis EXpedited; Culman és mtsai, 2009*) szoftver segítségével történt. A mátrixok által kapott adatok értelmezése céljából a többváltozós adatsorok vizsgálatára alkalmas főkomponens elemzést használtuk, továbbá a Shannon-Wiener és Simpson diverzitás index értékeket is meghatároztuk a PAST software (version 3.13) (*Hammer és mtsai, 2001*) statisztikai program segítségével. Az ivóvízhálózatok mikrobiális közösségei közötti különbségekben szerepet játszó környezeti paraméterek megállapítására a környezeti változókat, mint vektorokat az R program csomag envfit funkciójával illesztettük a T-RFLP adatok főkomponens elemzése által kapott ordinációira.

Culman SW, Bukowski R, Gauch HG, Cadillo-Quiroz H, Buckley, DH (2009) T-REX: Software processing and analysis of T-RFLP data. *BMC Bioinformatics*, 10:171.

Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis *Palaeontol Electron* 4(1):9 http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

Az illeszkedés szignifikancia szintjét random permutációkkal határoztuk meg (Oksanen és mtsai, 2015; R Core Team, 2015).

A Bacteria, Archaea közösségek, illetve a *Nitrospira* nemzetség domináns tagjait 16S rRNS gén, az ammónia-oxidáló mikroorganizmusokat pedig Bacteria és Archaea *amoA* gén molekuláris klónozásával és bázissorrend elemzésével azonosítottuk. Utóbbihoz a Sanger-féle stopnukleotida módszer módosított változatát alkalmaztuk. A kapott bázissorrend adatok kiértékelését MEGA7 program segítségével végeztük. Az egyes reprezentánsok legközelebbi rokon szervezeteit a GenBank adatbázisban, míg a legnagyobb szekvencia egyezést mutató törzseket, ill. klónokat az EzTaxon-e típustörzs adatbázis alapján azonosítottuk. Az OTU-k (Operational Taxonomic Unit - operatív taxonómiai egység) meghatározása során a nemzetség szintű besorolás határát 95%-os, a faji szintűt pedig 97%-os szekvencia hasonlósági értéken állapítottuk meg.

AZ ÉRTEKEZÉS EREDMÉNYEI ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A felszín alatti vízbázisokból származó rétegvizek geológiai eredetű, viszonylag állandó és kis ammónium-ion koncentrációval rendelkeztek, oxidált szervetlen nitrogén formákat (nitrit- és nitrát-iont) egy esettől eltekintve nem tudtunk kimutatni. A kezeletlen rétegvizekben általában kis heterotróf baktérium csíraszámértékeket, valamint tenyésztéses módszerrel nitrifikáló, nitrát-redukáló és denitrifikáló baktériumokat nem, illetve kis sejtszámértékekkel mutattunk ki. A különböző földrajzi helyzetű és talpmélységű kutakból származó rétegvizekben eltérően strukturált mikrobiális közösségek voltak jelen. Tenyésztéstől független módszerekkel a kutak közösségalkotói között nagy gyakoriságban mutattuk ki a nitrifikációban résztvevő *Nitrosomonas oligotropha*, *Nitrospira moscoviensis* és „*Candidatus Nitrospira defluvii*” szervezeteit, továbbá a *Pseudomonas*, *Gallionella*, *Thiobacillus* nemzetségek tagjait. A rétegvizek Archaea közösségalkotói közül a metanogén *Methanobacterium alcaliphilum* és a *Methanobacterium flexile* szervezeteit azonosítottuk, továbbá a *Methanosaeta harundinacea* szórványos előfordulását is kimutattuk. Eredményeink alapján a rétegvizek mikrobiális közösségalkotói főként tenyésztésbe nem vont szervezetek voltak.

Eredményeink rávilágítottak az alkalmazott ivóvízkezelésekre (levegőztetés, szűrés, fertőtlenítés), a vízkémiai paraméterek közül pedig az ammónium- és a nitrit-ion

Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H (2015) vegan: community ecology package R package version 2.3-0 <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria URL <https://www.R-project.org/>

koncentrációknak, valamint a számított teljes szervesanyag tartalomnak a rétegvizekből származó mikrobiális (Bacteria és Archaea) közösségek szerkezetét befolyásoló hatására. Kimutattuk a hálózati pontokon (víztorony, fogyasztói pont) a csíra- és sejtszámértékek növekedését, illetve a mikrobiális közösség szerkezetének térbeli változását, amely az alkalmazott fertőtlenítőszer (klór és klór-dioxid) hálózati koncentrációjának, ezáltal hatásának csökkenésére utal. A fenti eredmények alapján megállapítottuk, hogy az alkalmazott vízkezelések nem járultak hozzá az ivóvizek biológiai stabilitásához. Ezen kívül szintén az ivóvizek biológiai instabilitását jelzi az ivóvízelosztó rendszerekben kimutatott nitrit- és nitrát-ion, amelyek ammónium-ion oxidációs folyamatok eredményeként jöhettek létre. A klóradagolás körülményeinek megváltoztatása, azaz pl. a klór közvetlenül a kútba történő juttatása ugyanakkor hozzájárult a fogyasztásra szánt ivóvíz biológiai stabilitásának növeléséhez (WN-1).

Az ivóvízelosztó rendszerekben kis szervesanyag tartalmú közeghez és a klór-dioxid hosszú távú –1,5 illetve 4 éve fennálló - alkalmazásához adaptálódott, autochton mikrobiális közösségeket mutattunk ki. A mikrobiális közösségalkotók között a kutakból származó, nitrifikációban, illetve nitrát redukcióban és denitrifikációban résztvevő szervezeteket, valamint metanogén Archaeákat azonosítottunk. Nitrifikációban résztvevő szervezeteket nagy gyakorisággal azonosítottunk az ivóvízelosztó rendszerek hálózati pontjain, aktivitásuk pedig hozzájárult az ammónium-ion, nitriten keresztül, nitrátig történő oxidációjához. A vizsgált ivóvizek 14-51 μM ammónium-ion és kis nitrit-ion koncentráció ($<0,1 \text{ NO}_2^- \text{ -N mg l}^{-1}$) értékei hozzájárulhattak, a kis szubsztrát koncentrációhoz adaptálódott ammónia-oxidáló Bacteria (*Nitrosomonas oligotropha*; Bollmann és mtsai, 2002) és ammónia-oxidáló Archaea (French és mtsai, 2012), valamint a *Nitrospira* nemzetség tagjainak (Nowka és mtsai, 2015) jelenlétéhez. Eredményeink alapján a kutakból származó autochton ammónia-oxidáló mikroorganizmusok kimutathatósága jó összefüggést mutatott az ammónium-ion oxidációjával, ezáltal a nitrifikáció folyamatával. A nitrifikáció általában az ammónia-oxidáló Bacteria és Archaea együttes előfordulásával jellemzett hálózati pontokon bizonyult számottevőbbnek. Az ammónia-oxidáló mikroorganizmus közösség diverzitásának csökkenése ugyanakkor a nitrifikáció folyamatának elmaradását eredményezte. A nitrifikációs folyamatokat és az abban résztvevő szervezeteket a

Bollmann A, Bar-Gilissen, Laanbroek, HJ (2002) Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 68(10), 4751-4757.

French E, Kozłowski JA, Mukherjee M, Bullerjahn G, Bollmann A (2012) Ecophysiological characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria from freshwater. *Appl and Env Microbiol*, 78(16), 5773–5780.

Nowka, B, Daims, H, Spieck, E (2015) Comparison of oxidation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria: nitrite availability as a key factor in niche differentiation. *Appl Environ Microbiol*, 81(2), 745-753.

klór-dioxiddal kezelt ivóvízelosztó rendszerekben nagy gyakorisággal tudtuk kimutatni, ami alapján arra következtethetünk, hogy a nitrifikáló szervezetekre a klór-dioxid és a bomlása során keletkező klorit az alkalmazott (0,05 l és 2 ppm) koncentrációban kevésbé fejtett ki gátló hatást, ugyanakkor befolyásolta a nitrifikációban résztvevő, különböző mikroorganizmus csoportok, közösségek összetételét. A környezeti paraméterek közül az ammónia-oxidáló Bacteria közösségek szerkezete szintén szignifikáns összefüggést mutatott a klór koncentrációval ($p < 0,1$), illetve a kémiai oxigénigény értékével ($p < 0,05$). Ugyanakkor az ammónia-oxidáló Archaeakra a számított teljes szervesetlen nitrogén tartalom ($p < 0,1$), a nitrit-oxidáló baktériumokra pedig a pH értéke ($p < 0,05$) volt befolyásoló hatással.

Kimutattuk, hogy a nitrifikáció folyamata révén keletkező nitrát redukciója – és a számított teljes szervesetlen nitrogén tartalom csökkenése - főként a fogyasztói pontok közelében játszódott le, ahol nitrát-redukáló és denitrifikáló mikroorganizmusok nagy gyakorisággal és jelentős közösségen belüli arányban voltak jelen. A heterotróf baktériumok csíraszámértékeivel összevethető nitrát-redukáló és denitrifikáló csíraszámértékek alakultak ki, vagyis a vizsgált ivóvízelosztó rendszerekben arányuk és aktivitásuk nagy.

A vizsgált ivóvízhálózatokban az oldott oxigén tartalom alapján, mind a rétegvizekben (0,57-4,07 mg l⁻¹), mind pedig az ivóvízelosztó rendszerekben (7,75-9,0 mg l⁻¹) általában aerob körülmények uralkodtak. Ez megfelelő viszonyokat teremt az aerob nitrifikáló mikroorganizmusok számára. A nitrát redukció, illetve a denitrifikáció ellenben anaerob körülmények között lejátszódó folyamat. Az ivóvízelosztó rendszerekben a nitrát-redukáló és denitrifikáló mikroorganizmusok között főként fakultatív anaerob szervezeteket mutattunk ki, amely hozzájárulhatott túlélésükhöz nagy oldott oxigén tartalom mellett. Ugyancsak hozzájárulhatott ehhez a jelentős heterotróf baktérium csíraszámértékek alapján feltételezhető biofilm jelenléte, melynek anoxikus és anaerob rétegeket tartalmazó szerkezete kedvezhetett a nitrát-redukáló baktériumok és metanogén Archaeak megtelepedésének.

Munkánk további részeként nitrifikáló baktériumok MPN értékeinek meghatározására alkalmazott táplevesekkel dúsító tenyészeteket hoztunk létre. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy az alkalmazott tápközegek alkalmasak az ammónia-oxidáló mikroorganizmusok és a nitrit-oxidáló baktériumok tenyésztésére. Vizsgálataink során a dúsító tenyészetekkel az ammónia-oxidáló mikroorganizmusok jelenlétét és aktivitását azokon a mintavételi pontokon is kimutattuk, ahol a nitrifikációs folyamatok lejátszódása nem volt megállapítható. A kapott eredmények ezen szervezetek kis abundanciájára engednek

következtetni a vízminták baktérium közösségében. A diverz közösségekben kis arányban jelenlevő taxonok kimutatása a PCR technika nagy érzékenysége ellenére korlátolt (Hirooka és mtsai, 2009), ami hozzájárulhatott az ammónia-oxidáló Bacteria eltérő detektálhatóságához a dúsító tenyészetek, illetve a vízminták közösségeiben.

A dúsító tenyészetek közösségében a vízmintákkal megegyezően a *Nitrosomonas oligotropha*-t továbbá tenyésztésbe nem vont ammónia-oxidáló baktériumokat, valamint a nitrit-oxidáló *Nitrospira* nemzetség két tagját a *Nitrospira moscoviensis* és „*Candidatus Nitrospira defluvii*”-t azonosítottuk. A vízmintáktól eltérően a nitrifikáló dúsító tenyészetekben az ammónia-oxidáló Archaeak egy képviselőjét a „*Candidatus Nitrosotenuis cloacae*” SAT1 törzset is ki tudtuk mutatni. A dúsító tenyészeteknek a vizsgált ivóvizek ammónium-ion és nitrit koncentráció értékeit meghaladó 5 mM ammónium-ion és 0,5 mM nitrit-ion koncentráció értéke feltehetően nem alkalmas az ivóvizekben kimutatott ammónia-oxidáló Archaeak dúsítására, ugyanakkor a kimutatott ammónia- és nitrit-oxidáló Bacteria nem volt gátló hatással. Eredményeink alapján az alkalmazott tápközegek nem képesek teljes mértékben feltárni a nitrifikációban - főként az ammónia oxidációban - résztvevő közösségek összetételét, így megbecsülni azok mennyiségét. A környezeti mintákkal egy értéktartományba eső ammónium és nitrit-ion tartalmú tápközegek alkalmazása pontosabb képet adhat a vizsgált környezetben jelenlevő nitrifikációban résztvevő szervezetekről.

Eredményeink rávilágítottak, hogy a nitrifikáló tenyészetekben a vízmintákéhoz hasonló diverzitással jellemezhető mikrobiális közösségek voltak jelen. A tenyészetek inokulálására alkalmazott ivóvizek oligotróf táptalajon kapott jelentős heterotróf baktérium csíraszámértékei kis szervesanyag koncentrációhoz adaptálódott mikrobiális közösségek jelenlétére utalnak, amely hozzájárulhatott az alkalmazott minimál tápközegben való túlélésükhöz, illetve szaporodásukhoz. A szelektív tápközegek a nitrifikáló mikroorganizmusokon kívül Archaeak, számos kemoorgano-heterotróf, főként nitrát-redukáló baktérium szaporodását is elősegítették. A nitrát-redukáló szervezetek aktivitása hamis negatív (ammónia-oxidáló baktériumok), illetve hamis pozitív (nitrit-oxidáló baktériumok) eredményt adhat a nitrifikáló MPN tesztek során, befolyásolva a nitrifikáló mikroorganizmusok ezen módszerrel meghatározott sejtszámértékeit.

Hirooka, K., Asano, R., Nakai, Y. (2009) Change in the community structure of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge during selective incubation for MPN determination *J Ind Microbiol Biot*, 36, 679-685.

A nitrifikáló pokarióták molekuláris mikrobiológiai módszerekkel történő (16S rRNS és katabolikus [*amoA*] gén alapú) kimutatása során eltéréseket tapasztaltunk. Ennek felderítése céljából teszteltük az alkalmazott Bacteria és Archaea *amoA* primerek illeszkedését az European Nucleotide Archive adatbázisban fellelhető gén szekvenciákon. Ez alapján a *Nitrosomonas oligotropha* és a „*Candidatus Nitrosotenuis cloacae*” *amoA* gén alapú látszólagos hiányához hozzájárulhatott, hogy az adatbázisban szereplő parciális *amoA* gén esetében nem található meg a primerek kötőhelye. Tehát a kapott közösségszerkezeti arányok kialakításában szerepet játszhatott az alkalmazott primerek szelektivitása, illetve az *amoA* génekben esetlegesen fellelhető polimorfizmusok jelenléte.

Feltártuk, hogy a *Nitrospira* nemzetség kimutatására alkalmazott primerek egyéb, nem autotróf nitrifikáló szervezetek detektálását is lehetővé teszik, hozzájárulva a *Nitrospira* nemzetség diverzitás index értékeinek torzításához.

Eredményeink rávilágítottak a nitrifikáló mikroorganizmusok kimutatására alkalmazott módszerek korlátaira. A nitrifikáló mikroorganizmusok polifázikus, tenyésztésen alapú és tenyésztéstől független 16S rRNS és katabolikus géneken alapuló (ammónia-monooxigenáz gének) együttes értékelése vizsgálataink alapján jelentősen koherensebb eredményre vezetnek.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN KÉSZÜLT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Nagymáté, Zs., Nemes-Barnás, K., Krett, G., Márialigeti, K. (2017) Assessing the microbial communities inhabiting drinking water networks and nitrifying enrichments with special respect on nitrifying microorganisms. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* (megjelenés alatt)

Nagymáté, Zs., Homonnay, Z.G., Márialigeti, K. (2016) Investigation of Archaeal and Bacterial community structure of five different small drinking water networks with special regard to the nitrifying microorganisms. *Microbiological Research* 188-189 pp. 80-89.

FONTOSABB KONFERENCIA KÖZLEMÉNYEK

Nagymáté, Zs., Homonnay, Z.G., Márialigeti, K. (2010) Assay of the affecting factors of nitrification process in drinking water. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 58, 79.

Nagymáté, Zs., Márialigeti, K. (2012) Characterization of nitrifying bacterial community structure in five different small drinking water networks. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 60, 54. **Legjobb fiatal szerző díja**

Nagymáté, Zs., Nemes-Barnás, K., Márialigeti, K. (2014) Investigation of the nitrification process in five small drinking water systems with special emphasis on the ammonia-oxidizing microorganisms. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 62, 74.

EGYÉB TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Bódai, V., Nagy-Győr, L., Örkényi, R., Molnár, Zs., Kohári, Sz., Erdélyi, B., **Nagymáté, Zs.,** Romsics, Cs., Paizs, Cs., Poppe, L., Hornyánszky, G. (2016) *Wickerhamomyces subpelliculosus* as whole-cell biocatalyst for stereoselective bioreduction of ketones. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic* 134, 206-214

Felföldi, T., Kovács, E., Fikó, D.R., Tankó, Gy., Szabó, A., **Nagymáté, Zs.,** Szilveszter, Sz., Máthé, I. (2015) Hagyományostól eltérő eljárások alkalmazása új baktériumtörzsek laboratóriumi tenyésztése érdekében. *Hidrológiai Közlöny* 95(5-6), 19-21.

Krett, G., **Nagymáté, Zs.,** Márialigeti, K., Borsodi, A.K. (2016) Seasonal and spatial changes of planktonic bacterial communities inhabiting the natural thermal lake Hévíz. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 63(1), 115-130.

Nagymáté, Zs., Jurecska, L., Romsics, Cs., Mészáros, É., Tóth, F., Pohner, Zs., Márialigeti, K. (2016) Deklorináló mikróba közösségek molekuláris biológiai módszerekkel történő jellemzése. *Hidrológiai Közlöny* 96, 70-74.